

Aus der II. Medizinischen Klinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Thema der Arbeit

**Klinisch-chemische Untersuchungen
der Cholestase bei Patienten
und im Tierexperiment vor und nach Behandlung
mit Antimetaboliten**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Norbert Dickgießer
aus Tauberbischofsheim

Mainz, den 30. Oktober 1973

Aus der II. Medizinischen Klinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Thema der Arbeit

Klinisch-chemische Untersuchungen der
Cholestase bei Patienten und im Tier-
experiment vor und nach Behandlung mit
Antimetaboliten

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz, den Medizinischen
Fachbereichen

vorgelegt von

Norbert Dickgießer
aus Tauberbischofsheim

M a i n z , den 30. Oktober 1973



Fachbereichsdekan : Professor Dr. J. Fischer
Referent : Professor Dr. W. Prellwitz
Korreferent : Professor Dr. P. Schölmerich

Inhaltsverzeichnis

=====

I.	Einleitung	1
II.	Material und Methoden	
	A.) Patientengruppe mit extrahepatischer Cholestase	2
	B.) Tierversuche	3
	C.) Patientenkollektiv zur Überprüfung der Priorität der Exkretionsenzyme AP, LAP, yGT und 5'-NTD	4
	D.) Bestimmungen der einzelnen Parameter	
	1.) Analysengeräte	4
	2.) Methoden	5
	E.) Statistische Auswertung	9
	F.) Abkürzungen	10
III.	Ergebnisse	
	A.) Vergleich klinisch-chemischer Parameter von Patientenserum bei benignem und malignem Verschlaußikterus mit tierexperimenteller Anitcholestase	
	1.) Patientengruppen	11
	2.) Tierexperimentelle Anitcholestase	12
	B.) Tierversuche	
	1.) Vergleich zwischen der Kontroll- und Anitgruppe	13
	2.) Vergleich zwischen der Anit-Puromycingruppe mit der Kontrolle und der Anitgruppe	14
	3.) Vergleich der Anit-Cycloheximidegruppe mit der Anit-, Anit-Puromycin und Kontrollgruppierung	15
	4.) Auswertung mittels der linearen Kovarianzanalyse	17

C.)	Patientenkollektiv zur Überprüfung der Exkretionsenzyme	
1.)	Normale Humanseren	19
2.)	Seren mit erhöhten AP- und LAP-Werten	19
3.)	Seren mit erhöhten LAP- und normalen AP-Werten	20
IV.	Diskussion	21
V.	Zusammenfassung	29
VI.	Literaturverzeichnis	30
VII.	Danksagung	35
VIII.	Lebenslauf	36

Einleitung :

Unter Cholestase versteht der Kliniker das Fehlen oder die Verzögerung des Galleflusses in das Duodenum. Dabei müssen klinisch verschiedene Formen unterschieden werden (10,22) :

1. extrahepatische Cholestase.

Die Ursache dieser Erkrankung ist eine mechanische Abflußbehinderung in den extrahepatischen Gallengängen durch Steine, Tumore oder Metastasen.

2. intrahepatische Cholestase.

Dabei müssen zwei Hauptformen unterschieden werden:

- a.) intrahepatische mechanische Obstruktionen, so z.B. die intrahepatische biliäre Atresie, die Spätstadien der primär-biliären Zirrhose und die sekundär-biliäre Zirrhose
- b.) Cholestasen ohne nachweisbare Hindernisse in den intrahepatischen Gallengängen. Dazu gehören der rezidivierende Schwangerschaftsiktus, die idiopathischen Cholestasen, die Cholestasen bei Virushepatitis, die Cholestasen bei Infektionskrankheiten und die medikamentös bedingten Cholestasen.

Die klinische und biopsische Differenzierung dieser verschiedenen Formen ist schwierig. Klinisch-chemisch finden sich bei der Cholestase im Serum folgende Veränderungen (23,35) :

1. Aktivitätssteigerungen der Exkretionsenzyme : der alkalischen Phosphatase, der 5'-Nucleotidase, der mikrosomalen Leucinaminopeptidase und der γ -Glutamyl-Transpeptidase.
2. Erhöhung des Serumspiegels für Kupfer und Cholesterin. In den letzten Jahren wurde von Javla, Kallai, Klute und Prellwitz (25,27) festgestellt, daß die hepatisch synthetisierten Proteine Haptoglobin und Ceruloplasmin bei jeder Form der Cholestase erhöht sind. Die Deutung dieser Befunde erwies sich als schwierig. Grundsätzlich ergaben sich dabei folgende Fragen :

eine gesteigerte Synthese in der Leber,
ein verlangsamter Abbau bzw. eine verlangsamte Elimini-
erung aus dem Serum.

Außerdem kann diskutiert werden, ob Substanzen im Blut auf-
treten, die die pseudoperoxydatische Wirkung des Haptoglobi-
n-Hämoglobinkomplexes entweder aktivieren oder imitieren.

Von Richter konnte bei experimenteller Cholestase der Ratte
nach Applikation von Taurolithocholsäure oder Anit neben
dem Ansteigen der Cholesterinsynthese eine Steigerung der
Proteinsynthese nachgewiesen werden (29,30).

In der vorliegenden Arbeit sollen folgende Fragen geklärt
werden:

1. läßt sich klinisch-chemisch die Anitcholestase der Ratte
mit der menschlichen Erkrankung vergleichen.
2. welche Priorität haben insbesondere die Bestimmungen der
Exkretionsenzyme für die Diagnose der experimentellen
oder menschlichen Cholestase.
3. ist die gesteigerte Proteinsynthese, gemessen am Serum-
spiegel des Haptoglobins und Caeruloplasmin, lediglich
ein Symptom oder spielt sie einen pathogenetischen Fak-
tor bei dieser Erkrankung. Aus diesem Grunde wurde im
Tierexperiment die Proteinsynthese durch Puromycin und
Cycloheximide blockiert, so daß bei der experimentellen
Cholestase mit diesen beiden Antimetaboliten Untersuchungen
angestellt wurden.

Material und Methoden :

A.) Patientengruppe mit extrahepatischer Cholestase

Diese Ergebnisse stellte mir freundlicherweise Herr Prof.
Dr. W. Prellwitz aus seiner Veröffentlichung (27) zur
Verfügung.

Gruppe 1 : Kontrolle

n = 68

In dieser Gruppe wurden nur Seren aufgenommen,
deren Parameter bezüglich der AP, LAP, des Bili-
rubins, Haptoglobins, Caeruloplasmins und Kup-
fers nicht erhöht waren.

Gruppe 2 : benigner_Verschlußikterus

prae - OP : n = 21

post - OP : n = 11

Die Diagnose benigner Verschlußikterus wurde intraoperativ bestätigt und, falls die Cholestase nicht durch Steinverschluß bewirkt worden war, histologisch überprüft. Fünf Wochen nach erfolgreicher OP wurden die Serumspiegel erneut überprüft und in die Gruppe "post- OP " eingeordnet.

Gruppe 3 : maligner_Verschlußikterus

n = 18

Die Malignität wurde jeweils histologisch bestätigt, wobei das Gewebe durch Probelaparatomie oder bioptisch bei Laparaskopie gewonnen wurde.

B.) Tierversuche

Es wurden Ratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 250 g eingesetzt und in folgende Gruppen eingeteilt :

Gruppe 1 : Kontrollgruppe

n = 12

Gruppe 2 : Anitgruppe

n = 14

Diesen Ratten wurde oral 130 mg/kg Anit verabreicht. 48 Stunden später wurden sie entblutet.

Gruppe 3 : Anit-Puromycingruppe

n = 12

Auch hier wurden 130 mg/kg Anit per os gegeben. Gleichzeitig erfolgte eine intraperitoneale Applikation von 1 mg/kg Puromycin. Nach 24 Stunden Wiederholung der Puromycindosis. Entblutung nach weiteren 24 Stunden.

Gruppe 4 : Anit-Cycloheximide-Gruppe

n = 12

Es wurden 130 mg/kg Anit per os und 1 mg/kg Cycloheximide intraperitoneal gleichzeitig appliziert. Nach 24 Stunden Wiederholung der Cycloheximidedosis. Entblutung nach weiteren 24 Stunden.

C.) Patientenkollektiv zur Überprüfung der Priorität
der Exkretionsenzyme AP, LAP, γ -GT und 5'-NTD

1.) Normalgruppe

n = 57

Hier wurden die Seren eingeordnet, bei denen folgende Parameter im Normbereich lagen:

Transaminasen, alkalische Phosphatase, Leucinaminopeptidase, γ -Glutamyltransferase, Kupfer und Bilirubin.

2.) Gruppe mit erhöhter LAP und normaler AP

n = 25

Das Verhalten der anderen Werte blieb bei der Gruppeneinteilung unberücksichtigt.

3.) Gruppe mit erhöhter LAP und erhöhter AP

n = 29

Auch hier wurden die Seren nur nach dem Gesichtspunkt der LAP- und AP-Aktivitäten eingeordnet.

D.) Bestimmungen der einzelnen Parameter

1.) Analysengeräte

a.) Analysensystem nach Eppendorf

Das Analysensystem setzt sich zusammen aus einem Programmier, Reagenzdosierer, Incubator, Photometer, einer Transformationsstufe und einem Analogrechner. Über einen angeschlossenen Direktschreiber werden die Extinktionsänderungen pro Zeiteinheit graphisch aufgetragen. Die Neigung der daraus resultierenden "Zeit-Umsatz-Geraden", der sog. "Enzymwinkel", ist proportional der Enzymaktivität und kann mit Hilfe eines transparenten Winkelmessers abgelesen werden.

In dem Analysensystem wurden die Aktivitäten der Transaminasen, der alkalischen Phosphatase und der Leucinaminopeptidase bestimmt.

b.) Küvettenwechselautomat mit Kompensationsschreiber
der Fa. Eppendorf

Hier wurde die Aktivität der γ -GT bestimmt. Dabei wurde mit geheiztem Küvettenwechsler gearbeitet, um eine konstante Temperatur zu garantieren.

c.) Braun-Systematic-Automatic-Analyser in Verbindung mit ZEISS - Photometer

Hier wurden die Serumspiegel von Cholesterin und Bilirubin bestimmt.

d.) Spektralphotometer PMO 4 von ZEISS

Hier wurde der Caeruloplasminspiegel und die 5'-NTD-Aktivität analysiert.

e.) Atomabsorptionsspektrophotometer Perkin-Elmer, Modell 403

Hiermit wurde das Serumkupfer bestimmt.

2.) Methoden

a.) GPT- Aktivitätsmessung

Die Bestimmung der GPT-Aktivität erfolgte im UV-Test mit Hilfe des entsprechenden Reagenziensatzes der Fa. Boehringer Mannheim (Best. Nr. 15958). Dieser enthält die zur Bestimmung notwendigen Reaktionsgemische bereits in den Konzentrationen (4) :

80	mM	L-Alanin
0,1	M	Phosphatpuffer pH 7,4
12	mM	NADH
0,25	mg	LDH pro ml
0,34	M	a-Ketoglutarat

Die Messung wurde im Mikrolitermaßstab durchgeführt, daher benötigte man 100 μ l Serum pro Analyse. Die Temperatur betrug während der gesamten Reaktionszeit 25 °C, was durch den Incubator gewährleistet wurde.

b.) GOT- Aktivitätsbestimmung

Das Prinzip der GOT-Bestimmung gleicht demjenigen der GPT-Methode. Dabei kam der Reagenziensatz der Fa. Boehringer Mannheim zum Einsatz (Best. Nr. 15957), der die Reaktionsgemische in folgender Konzentration enthält (4) :

40	mM	L-Aspartat
0,1	M	Phosphatpuffer pH 7,4
12	mM	NADH
0,25	mg	MDH pro ml
0,34	M	a-Ketoglutarat

Die Analyse erfolgte bei 25 °C unter Verwendung von

100 ul Serum pro Bestimmung.

c.) Alkalische Phosphatase

Die Aktivitätsmessung der AP fand kinetisch statt. Als Reaktionsgemisch kam der entsprechende Reagenziensatz der Fa. Boehringer Mannheim (Best. Nr. 15987) in Anwendung. Dieser enthält neben 5,5 mM Natrium-p-Nitrophenylphosphat noch 50 mM Glycinpuffer, pH 10,5, ferner 0,5 mM $MgCl_2$ und 0,02 N NaOH (4). Die Reaktionstemperatur betrug 25 °C. Da auch hier die Mikrolitermethode zur Anwendung kam, wurden 20 ul Serum benötigt.

d.) Leucinaminopeptidase

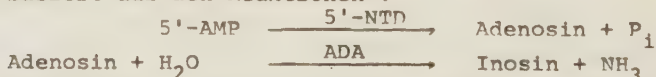
Die Methode der LAP-Bestimmung lehnt sich an die Angaben von W. Nagel, F. Willig und F.H. Schmidt an (18). Diese berücksichtigt die Spaltung von L-Leucin-p-Nitranilid durch die LAP in Leucin und p-Nitranilin, wobei sich der Reaktionsablauf proportional der LAP-Aktivität verhält. Hierbei kann die p-Nitranilinmenge aufgrund der gelben Farbe bei 405 nm bestimmt werden.

Die eingesetzte Testkombination der Fa. Boehringer Mannheim (Best. Nr. 15952) enthält einen 50 mM Phosphatpuffer, pH 7,2 und in Methanol gelöstes 25 mM L-Leucin-p-nitranilid.

Die Messung erfolgte bei 25 °C mit 50 ul Serum.

e.) 5'-Nucleotidase

Die Bestimmung der 5'-NTD erfolgte nach der von Levhold und Mitarbeitern angegebenen Methode (3,12). Dieser Test basiert auf den Reaktionen :



Dabei ist der Übergang in Inosin bei 265 nm empfindlich meßbar. Die unspezifischen Phosphatasen, welche die 5'-AMP-Spaltung ebenfalls bewirken könnten, werden folgendermaßen abgegrenzt :

die Aktivität der alkalischen Phosphatase wird auf pH 7,5 umgerechnet und von der im UV-Test ermittelten 5'-AMP-Hydrolyse subtrahiert.

die saure Phosphatase wird durch Tartrat abgeblockt.

Die zur Bestimmung notwendigen Reagenzien waren:

31 mM MnSO_4
0,17 M Tris pH 7,5
6,2 mM 5'-AMP pH 7,5
0,2 M Tartrat
2,7 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ pH 6,0
Adenosindesaminase

Dabei wurden die Chemikalien von der Fa. Merck bezogen, die 5'-AMP (Best. Nr. 15015) und Adenosindesaminase (Best. Nr. 15346) von Boehringer Mannheim.

Einem Puffer-Substrat-Gemisch (genaue Beschreibung siehe Literaturstelle 12) werden bei 37 °C 20 ul ADA und 100 ul Serum hinzugefügt. Nach Vorinkubation kann der Extinktionsabfall pro Minute am ZEISS ermittelt werden. Hieraus ergibt sich durch Multiplikation mit einem Faktor und Subtraktion der AP- die 5'-NTD-Aktivität in U/l.

f.) γ -Glutamyl-Transferase

Die Methode der γ GT-Bestimmung basiert auf den Angaben von Szasz (31,33). Hierbei überträgt die γ -GT vom γ -Glutamyl-p-nitranilid den Glutamylrest auf Glucyl-Glycin. Das frei werdende p-Nitranilin ist proportional der γ -GT-Aktivität und kann aufgrund seiner gelben Farbe bei 405 nm gemessen werden. Die Reaktion wurde bei 25 °C im Mikrolitermaßstab durchgeführt. Dabei werden 50 ul Serum benötigt. Auch hier kam die Testkombination der Fa. Boehringer Mannheim zur Anwendung (Best. Nr. 15885).

g.) Bilirubin

Die Analyse des Gesamtbilirubin erfolgte mit den Reagenzien der Fa. Boehringer Mannheim (Best. Nr. 15949). Diese enthalten :

Sulfanilsäure (29 mM Sulfanilsäure
+ 0,17 N HCl)
Natriumnitrit gelöst in 25 mM NaOH
Coffein-Natriumbenzoat (0,26 M Coffein
+ 0,52 M Natriumbenzoat)

Tartrat (0,93 M Tartrat + 1,9 N NaOH)

Auch die Bestimmung des indirekten Bilirubins wurde mittels dieser Testkombination durchgeführt.

Die Analyse erfolgte bei einer Temperatur von 25 °C und einer Wellenlänge von 578 nm (Gesamt-Bilirubin) , bzw. 546 nm (Direktes Bilirubin). Da im Mikrolitermaßstab gearbeitet wurde, benötigte man jeweils 50 ul Serum pro Bestimmung.

h.) Cholesterin

Verwendet wurden Testkombinationen von Boehringer Mannheim (Best. Nr. 15949) . Diese basieren auf der Methode nach Liebermann-Burchhardt.

Die Bestimmung wurde bei 25 °C im Mikrolitermaßstab durchgeführt. Dazu waren jeweils 20 ul Serum erforderlich. Die Messung erfolgte bei einer Wellenlänge von 578 nm.

i.) Caeruloplasmin

Caeruloplasmin katalysiert die Oxidation von farblosem p-Phenylendiamin zu einem purpur-violetten Farbstoff. Dieser Prozeß ist im Photometer bei 546 nm und einer Temperatur von 25 °C meßbar.

Die benötigten Reagenzien sind :

p-Phenylendiamin-Dihydrochlorid (Best. Nr. 7247,
Fa. Merck)

Acetatpuffer pH 5,6

Hieraus wird durch Mischung im Verhältnis von 1,44 : 1 eine Lösung hergestellt, welcher 50 ul Serum zugegeben werden. Daraufhin läuft die kinetische Reaktion ab. Diese Methode ist in Literaturstelle 31 ausführlich beschrieben.

k.) Haptoglobin

Die Bestimmung erfolgte nach der Titrationsmethode von Jayle (8).

Prinzip : das im Serum enthaltene Haptoglobin wird durch Zugabe eines Überschusses von Haemoglobin in den Haemoglobin-Haptoglobin-Komplex überführt. Dieser hat eine starke peroxydatische Wirkung im sauren Milieu. Je nach

der peroxvdatischen Aktivität des Hn-Hb-Komplexes wird Äthylhydroperoxvd in Äthanol und atomares O gespalten. Ein Atom O nimmt 2 Elektronen auf, die es von den im Substrat befindlichen Jodionen erhält. Letztere werden dabei zu elementarem Jod oxvdiert und durch Jodometrie bestimmt.

Die Lösungen :

0,1 M KJ-Lösung

0,01 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Haptoglobinlösung (400 mg Trocken-Hn / 10 ml)

Peroxvd : Ethvl Hvdrogen Peroxide Aqueous
Solution 10-12%

Der durch Titration ermittelte wahre Verbrauch von Natriumthiosulfat geht als Faktor in die Berechnung ein und ergibt durch Multiplikation mit einem Temperaturfaktor die Haptoglobinkonzentration in mg%.

1.) Kupfer

Die Bestimmung der Kupferkonzentration erfolgte mit Hilfe der Atomabsorption.

E.) Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach folgenden Methoden :

1. Bestimmung der jeweiligen Mittelwerte und deren Standardabweichungen
2. Berechnung der Signifikanz der Mittelwerte. Hierzu wurde der Test nach Scheffée eingesetzt. Dies erfolgte :
 - a.) bei den Tierversuchen zwischen der Kontrollgruppe, der Anit-, Anit-Puromycin- und Anit-Cycloheximidegruppierung.
 - b.) bei den Patientenserien mit extrahepatischer Cholestase zwischen der Kontrollgruppe und den Parametern bei benigner und maligner Cholestase.
3. Lineare Kovarianzanalyse zur Fragestellung einer Korrelation zwischen den Enzymen AP, LAP und 5'-NTD.
Mit dieser Methode schaltet man eine Größe eines Diagramms aus, indem man ihre Werte als auf einer Geraden

$y = Bx + A$ liegend umrechnet. Bestehen Beziehungen, so müssen sich die Größen der anderen Koordinaten ebenfalls auf einer Geraden anordnen.

4. Berechnung des Dubois'schen Korrelationskoeffizienten r zur Ermittlung einer Beziehung zwischen den Enzymen : AP, LAP, γ GT und 5'-NTD. Dies erfolgte an dem entsprechenden Patientenkollektiv.

F.) Abkürzungen

AP	alkalische Phosphatase
A. + C.	Anit-Cycloheximide-Gruppe
5'-AMP	5'-Adenosin-Monophosphat
A. + P.	Anit-Puromycin-Gruppe
Cu	Serumkupfer
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
G-6-PD	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
γ -GT	γ -Glutamyl-Transpeptidase
HBDH	Hydroxybutyratdehydrogenase
LAP	Leucinaminopeptidase
LDH	Lactatdehydrogenase
n	Anzahl der Meßwerte
5'-NTD	5'-Nucleotidase
OCT	Ornithin-Carbamyl-Transferase
m-RNA	messenger Ribonucleinsäure
r-RNA	ribosomale Ribonucleinsäure
t-RNA	transfer-Ribonucleinsäure
SDH	Sorbitdehydrogenase

Ergebnisse :

A.) Vergleich klinisch-chemischer Parameter von Patienten- seren bei benignem und malignem Verschlußikterus mit tierexperimenteller Anitcholestase

1.) Patientengruppen (extrahenatische Cholestase)

Alkalische Phosphatase

Die Kontrollgruppe zeigte bei der AP im Mittel eine Enzymaktivität von 31 U/l (Tabelle I). Im präoperativen Stadium eines benignen Verschlukterus war die Aktivität signifikant auf 141 U/l angestiegen. Postoperativ sank sie auf 48 U/l zurück, so daß sich statistisch eine Auffälligkeit gegenüber den Werten der Kontrolle nachweisen ließ.

Die Aktivität bei malignem Verschlukterus lag noch geringfügig über derjenigen des benignen Verschlusses.

Haptoglobin

Der Normalspiegel des Haptoglobins lag bei 88,5 mg% (Tabelle I) . Er stieg bei benignem Verschlukterus auf 175 mg% an, sank jedoch nach Operation wieder in den Bereich der Kontrolle. Es ließ sich auch hier nur der Mittelwert der präoperativen Gruppe als signifikant gegenüber der Kontrolle nachweisen. Die Serum-Haptoglobinkonzentration bei malignem Verschlukterus war mit 178 mg% annähernd identisch mit der des präoperativen Stadiums bei benignem Verschuß. Gegenüber der Kontrolle bestand statistische Signifikanz.

Caeruloplasmin

Das Caeruloplasmin verhielt sich ähnlich wie die AP und das Haptoglobin. Auch hier stieg bei benignem Verschuß-ikterus der Serumspegel signifikant gegenüber der Kontrolle an und zwar von 36,6 mg% auf 67,3 mg% (Tabelle I). Der Wert normalisierte sich wieder nach Operation und war statistisch vom Wert der Kontrolle nicht zu differenzieren. Bei malignem Verschlukterus zeigte sich mit 75,5 mg% ein Niveau, das noch etwas über dem des benignen Verschlusses lag. Damit war auch dieser Wert gegenüber der Kontrolle signifikant erhöht.

Bilirubin

Bilirubin lag bei einem Serumspegel von 0,75 mg% im Normbereich (Tabelle I). Einen signifikanten Anstieg auf 8,82 mg% zeigte die präoperative Gruppe des benignen Verschlukterus. Nach der Operation fiel der Wert wieder auf 1,19 mg% ab, so daß statistisch kein Unterschied zur

Tabelle I
Vergleich klinisch-chemischer Parameter von Patienten seren bei benigem und malignem Verschlufikterus
mit tiereperimenteller Anticholestase

TIFGRUPPEN				PATIENTENSEREN *			maligner Verschl.ikt.
Kontrolle	Anit	Kontrolle	benannter Verschl.ikt. pre-Op	post-Op			
AP	n x s Sign.	12 414 66 ++	68 31 30 ++	21 141 160 ++	11 48 14 +	18 153 114 ++	
Hämo- globin	n x s Sign.	14 29,7 3,0 ++	68 88,5 15 ++	21 175 21 ++	11 89,9 17 -	18 178 20 ++	
Caerulo-	n x s Sign.	15 42,9 4,9 ++	68 36,6 10 ++	21 67,3 19 ++	11 40,6 12 -	18 75,5 18 ++	
Bili- rubin	n x s Sign.	12 0,14 0,06 ++	68 0,75 0,43 ++	21 8,82 4,40 ++	11 1,19 0,5 -	18 10,7 3,8 ++	
Kunfer	n x s Sign.	15 145 19 ++	68 101 25 ++	21 209 48 ++	11 124 22 +	18 215 48 ++	

- = statistisch keine Zuordnung gegenüber Kontrolle möglich

+ = p = 5% = statistisch auffällig gegenüber Kontrolle

++ = p ≤ 1% = statistisch signifikant gegenüber Kontrolle

* = Diese Ergebnisse stellte mir freundlicherweise Herr Prof. Dr. Prellwitz aus seiner Veröffentlichung (27) zur Verfügung

Kontrolle nachweisbar war. Bei malignem Verschlußikterus lag der Spiegel mit 10,7 mg% noch über dem des praeeoperativen Stadiums bei benignem Verschluß. Gegenüber der Kontrolle war er signifikant erhöht.

Kupfer

Die Kupferwerte lagen bei 101 ug% im Normbereich. Sie stiegen bei benignem Verschluß auf 209 ug% signifikant gegenüber der Kontrolle an (Tabelle I). Postoperationem normalisierte sich der Serumspiegel nicht vollständig, so daß sich statistisch eine Auffälligkeit gegenüber der Kontrolle nachweisen ließ. Die Tendenz bei malignem Verschlußikterus glich der des benignen Verschlusses und lieferte beinahe identische Mittelwerte. Damit lag auch hier eine Signifikanz gegenüber der Kontrolle vor.

Die Beurteilung all dieser Parameter zeigte damit eine einheitliche Grundtendenz. So stiegen die Serumwerte bei benignem und malignem Verschlußikterus signifikant gegenüber der Kontrolle an. Dabei zeigten Haptoglobin und Kupfer sowohl bei malignem als benignem Verschluß ähnliche Mittelwerte; bei der AP, Bilirubin und dem Caeruloplasmin lagen diejenigen des malignen Verschlusses etwas höher. Die größten Aktivitätssteigerungen ergaben dabei die AP und das Bilirubin, während die Werte des Haptoglobins, Kupfer und Caeruloplasmin ungefähr das Doppelte ihres Mittelwertes erreichten.

Postoperationem sanken die Serumspiegel wieder in den Normalbereich ab. Hier ließ sich nur noch bei Kupfer eine statistische Auffälligkeit gegenüber der Kontrolle nachweisen.

2.) Tierexperimentelle Anticholestase

Die alkalische Phosphatase zeigte in der Antigruppe mit einem Mittelwert von 818 U/l einen signifikanten Anstieg gegenüber der Kontrolle mit 414 U/l (Tabelle I). Der Haptoglobinwert der Kontrolle betrug 29,7 U/l, derjenige der Antigruppe dagegen 52,1 U/l. Damit war dieser Anstieg signifikant. Caeruloplasmin und Bilirubin stiegen ebenfalls

signifikant an : das Caeruloplasmin von 42,9 mg% auf 74,7 mg%, das Bilirubin von 0,14 mg% auf 3,55 mg%. Der Kupferspiegel der Kontrolle betrug 145 µg%, nach Anit dagegen 238 µg%. Er war damit statistisch signifikant erhöht.

Im Tierexperiment lag also bei jedem Parameter nach Anitgabe ein statistisch signifikanter Anstieg gegenüber der Kontrolle vor.

Damit zeigte sich beim Vergleich zwischen den Tier- und Patientenserum das gleiche Verhalten : bei Vorliegen einer Cholestase stiegen alle angeführten Parameter signifikant gegenüber der Kontrolle an. Dabei spielte es keine Rolle, ob der gestörte Abfluß intra- (Tierversuch) oder extrahepatisch (Patientenserum) bedingt war. Falls es möglich war, die Cholestase wieder zu beseitigen (post-OP-Gruppe der Patientenserum), normalisierten sich die Werte wieder.

B.) Tierversuche

1.) Vergleich zwischen der Kontroll- und Anitgruppe

Das Verhalten der alkalischen Phosphatase, von Haptoglobin und Caeruloplasmin bei tierexperimenteller Anitcholestase wurde bereits oben aufgezeigt. Auch auf Bilirubin und Kupfer wurde dabei eingegangen. Zusätzlich fanden noch Bestimmungen des Serumsiegels der LAP, 5'-NTD und des Cholesterins bei denselben Rattenserum statt. Sie zeigten folgendes Ergebnis:

die Leucinaminopeptidase zeigte eine signifikante Aktivitätsvermehrung von 27,0 U/l auf 34,7 U/l (Tabelle II,2). Ein größerer Anstieg ließ sich bei der 5'-NTD nachweisen. Sie lag im Normbereich bei 18,5 U/l und zeigte nach Anit einen Wert von 63,5 U/l (Tabelle II,3). Dieser Wert war gegenüber der Kontrolle signifikant erhöht. Ein signifikanter Anstieg des Serumsiegels fand sich auch bei Cholesterin . Hier betrug der Normalwert 92 mg%, nach Anit fanden sich 162 mg% im Mittel (Tabelle II,8).

Der Vergleich zwischen der Kontroll- und Anitgruppe ergab

Tabelle II

Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen
von Enzymaktivitäten, Haptoglobin, Caeruloplasmin,
Bilirubin, Kupfer und Cholesterin
bei den verschiedenen Tierversuchsgruppen

Tabelle II,1

Alkalische Phosphatase
=====

A.) Meßwerte (in U/l)

	Kontrolle	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
n	12	14	12	12
$\bar{x}$	414	818	353	235
s	66	141	82	54

B.) Signifikanzen

	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
Kontrolle	++	-	++
Anit		++	++
A. + P.	++		++

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

+ = $p = 5\%$ = statistisch auffällig

++ = $p \leq 1\%$ = statistisch signifikant

Tabelle II,2

Leucinaminopeptidase

=====

A.) Meßwerte (in U/l)

	Kontrolle	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
n	12	14	12	12
$\bar{x}$	27,0	34,7	29,3	32,8
s	5,1	4,9	4,7	5,3

B.) Signifikanzen

	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
Kontrolle	++	-	+
Anit		+	-
A. + P.	+		-

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

..+ = $p = 5\%$ = statistisch auffällig

++ = $p \leq 1\%$ = statistisch signifikant

Tabelle II,3

5'-Nucleotidase

=====

A.) Meßwerte (in U/l)

	Kontrolle	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
n	12	26	17	12
$\bar{x}$	18,5	63,5	83,0	14,5
s	5,1	15,8	19,6	5,1

B.) Signifikanzen

	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
Kontrolle	++	++	-
Anit		++	++
Anit+P.	++		++

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

+ = $p = 5\%$ = statistisch auffällig

++ = $p \leq 1\%$ = statistisch signifikant

Tabelle II,4

Haptoglobin

=====

A.) Meßwerte (in mg%)

	Kontrolle	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
n	14	12	12	12
$\bar{x}$	29,7	52,1	54,2	0,00
s	3,0	15,1	23,7	0,00

B.) Signifikanzen

	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
Kontrolle	++	++	++
Anit		-	++
A. + P.	-		++

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

+ = p = 5% = statistisch auffällig

++ = p ≤ 1% = statistisch signifikant

Tabelle II,5

Caeruloplasmin
=====

	Kontrolle	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
n	15	12	12	12
$\bar{x}$	42,9	74,7	71,5	29,0
s	4,9	14,9	9,9	6,3

B.) Signifikanzen

	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
Kontrolle	++	++	++
Anit		-	++
A. + P.	-		++

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

+ = $p = 5\%$ = statistisch auffällig

++ = $p \leq 1\%$ = statistisch signifikant

Tabelle II,6

Bilirubin
=====

A.) Meßwerte (in mg%)

	Kontrolle	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
n	12	22	12	12
$\bar{x}$	0,14	3,55	5,11	0,61
s	0,06	2,13	2,60	0,54

B.) Signifikanzen

	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
Kontrolle	++	++	++
Anit		-	++
A. +P.	-		++

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

+ = $p = 5\%$ = statistisch auffällig

++ = $p \geq 1\%$ = statistisch signifikant

Tabelle II,7

Kupfer
=====

A.) Meßwerte (in ug%)

	Kontrolle	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
n	15	12	12	12
$\bar{x}$	145	238	234	110
s	19	20	32	10

B.) Signifikanzen

	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
Kontrolle	++	++	++
Anit		-	++
A. +P.	-		++

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

+ = $p = 5\%$ = statistisch auffällig

++ = $p \leq 1\%$ = statistisch signifikant

Tabelle II,8

Cholesterin
=====

A.) Merwerte (in mg%)

	Kontrolle	Anit	Anit+Puro	Anit+Cvclo
n	12	12	12	12
$\bar{x}$	92	162	204	67
s	20	24	55	14

B.) Signifikanzen

	Anit	Anit+Puro	Anit+Cyclo
Kontrolle	++	++	++
Anit		+	++
A. + P.	+		++

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

+ = statistisch auffällig = $p = 5\%$

++ = $p \leq 1\%$ = statistisch signifikant

daher bei jedem Parameter einen signifikanten Anstieg der Serumspiegel nach Anitgabe. Davon waren sowohl die Enzyme AP, LAP und 5'-NTD betroffen, als auch die Sekretenzyme Haptoglobin und Caeruloplasmin, aber auch das Kupfer und Cholesterin.

2.) Vergleich der Anit-Puromycingruppe mit der Kontrolle und der Anitgruppe

Die alkalische Phosphatase zeigte nach Puromycin bei der Anitcholestase einen Mittelwert von 353 U/l (Tabelle II,1). Dieser Wert lag noch unter demjenigen der Kontrolle (414 U/l), war ihr gegenüber jedoch nicht statistisch zu unterscheiden. Nur zur Anitgruppe (818 U/l) ließ sich ein signifikanter Unterschied nachweisen.

Bei der LAP betrug die Aktivität nach Puromycin bei Anitcholestase 29,3 U/l im Mittel (Tabelle II,2). Sie lag damit zwischen derjenigen der Kontrolle (27,0 U/l) und der Anitgruppe (34,7 U/l). Eine Signifikanz war jedoch in keinem Falle nachweisbar. Eine statistische Auffälligkeit bestand hinsichtlich der Anit- und Anit-Puromycingruppe. Die Aktivität der 5'-NTD lag mit 83,0 U/l weit über derjenigen der Kontrolle (18,5 U/l) und der Anitgruppe (63,5 U/l). Alle diese Werte unterscheiden sich statistisch signifikant (Tabelle II,3).

Haptoglobin zeigte nach Puromycin bei der Anitcholestase mit 54,2 mg% einen der Anitgruppe (52,1 mg%) ähnlichen Wert. Zwischen beiden konnte auch statistisch kein Unterschied festgestellt werden (Tabelle II,4). Anders gegenüber der Kontrolle, die mit 29,7 mg% weit unter der Anit-Puromycingruppe lag. Hier bestand ein signifikanter Unterschied.

Caeruloplasmin ergab die gleiche Tendenz (Tabelle II,5). Hier war der Serumspiegel mit 71,5 mg% nahezu identisch mit demjenigen der Anitgruppe (74,7 mg%). Es ließ sich auch statistisch kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachweisen. Anders verhielt sich dies gegenüber der Kontrolle, die mit 42,9 mg% signifikant unter der Anit-Puromycingruppe lag.

Bei Bilirubin befand sich der mittlere Meßwert der Anitgruppe nach Puromycingabe mit 5,11 mq% knapp über dem von Anit (3,55 mq%). Statistisch war der Unterschied nicht zu verifizieren (Tabelle II,6). Das Verhalten gegenüber der Kontrolle (0,14 mq%) ergab jedoch einen signifikanten Anstieg.

Kupfer zeigte mit 234 uq% bei Puromycingabe in der Anitcholestase einen der Anitserie (238 uq%) praktisch identischen Wert. Auch statistisch war keine Zuordnung möglich. Gegenüber der Kontrolle (145 uq%) bestand jedoch Signifikanz (Tabelle II,7).

Cholesterin lag mit einem Wert von 204 mq% bei der Puromycingruppe nach Anitcholestase statistisch auffällig über dem Spiegel der Anitgruppierung (162 mq%). Signifikant war hier wiederum der Unterschied zur Kontrolle (92 mq%). (Tabelle II,8).

Der Gesamteindruck der Anit-Puromycingruppe ergab gegenüber der Kontrolle jeweils einen statistisch signifikanten Anstieg der Serumspiegel. Hiervon ausgenommen waren die Aktivitäten der alkalischen Phosphatase und der Leucinaminopeptidase. Die Unterschiede zur Anitgruppe dagegen waren nicht so eindrucksvoll: eine statistische Signifikanz ließ sich nur bezüglich der AP- und 5'-NTD-Aktivität nachweisen ; eine Auffälligkeit bestand bei der LAP und bei Cholesterin. Die übrigen Parameter, also Haptoglobin, Caeruloplasmin, Bilirubin und Kupfer waren statistisch von der Anitgruppe nicht zu differenzieren.

3.) Vergleich der Anit-Cycloheximidegruppe mit der Anit-, Anit-Puromycin- und Kontrollgruppierung

Die alkalische Phosphatase zeigte bei der Anit-Cycloheximide-Gruppe eine Aktivität von 235 U/l (Tabelle II,1). Dies war der niedrigste Wert aller vier Gruppierungen. Auch statistisch ließ sich dieser Serumspiegel als signifikant unter der Kontrolle liegend nachweisen. Er befand sich auch signifikant unter der Aktivität der Anit- und Anit-Puromycingruppe.

Bei der LAP war der Wert von Anit-Cycloheximide 32,8 U/l.

(Tabelle II,2). Er lag damit knapp unter demjenigen von Anit (34,7 U/l) und schwach über dem von Anit-Puromycin (29,3 U/l). Die Unterschiede waren jedoch so minimal, daß sie statistisch nicht zu verifizieren waren. Gegenüber dem Wert der Kontrolle (27,0 U/l) ließ sich eine statistische Auffälligkeit nachweisen.

Die 5'-NTD zeigte ein etwas anderes Bild (Tabelle II,3). Hier lag die Aktivität von Anit-Cycloheximide mit 14,5 U/l im Mittel knapp unter dem Niveau der Kontrolle. Dieser Unterschied ließ sich statistisch jedoch nicht erfassen. Gegenüber Anit und Anit-Puromycin war dieser Wert aber signifikant erniedrigt.

Der Haptoglobinspiegel war bei allen 12 Versuchstieren nach Gabe von Anit-Cycloheximide 0,00 mg% (Tabelle II,4). Damit lag dieser Wert signifikant unter denjenigen aller anderen Versuchsgruppen.

Auch bei Caeruloplasmin lag der Serumspegel nach Anit-Cycloheximide mit 0,61 mg% signifikant über dem der Kontrolle (0,14 mg%). Noch größer waren die Unterschiede gegenüber Anit (3,55 mg%) bzw. Anit-Puromycin (5,11 mg%). Sie ließen sich ebenfalls als signifikant nachweisen (Tabelle II,6).

Bei Bilirubin lag der Serumspegel nach Anit-Cycloheximide mit 0,61 mg% signifikant über dem der Kontrolle (0,14 mg%). Noch größer waren die Unterschiede gegenüber Anit (3,55 mg%) bzw. Anit-Puromycin (5,11 mg%). Diese ließen sich ebenfalls als signifikant nachweisen. (Tabelle II,6).

Kupfer zeigte bei Anit-Cycloheximide mit 110 ug% den tiefsten Spiegel aller vier Versuchsgruppen. Er war gegenüber jeder Gruppierung signifikant erniedrigt (Tabelle II,7). Cholesterin verhielt sich wie Kupfer. Hier lag der Serumspegel nach Anit-Cycloheximide mit 67 mg% signifikant sowohl unter dem der Kontrolle (92 mg%) als auch dem von Anit (162 mg%) und Anit-Puromycin (204 mg%) (Tabelle II,8).

Das Verhalten der Anit-Cycloheximide-Gruppe ergab damit folgendes Bild:

- bei der LAP ließen sich mit Ausnahme einer auffällig höheren Aktivität gegenüber der Kontrolle keine Unterschiede zu einer der anderen Gruppen nachweisen
- die 5'-NTD zeigte gegenüber der Kontrolle keinen statistisch veränderten Serumspiegel
- Bilirubin hatte einen Kontrollwert, der sich signifikant unter dem Niveau der Anit-Cycloheximidegruppierung befand
- bei allen anderen Gruppen lagen die Serumspiegel der entsprechenden Parameter signifikant über derjenigen der Anit-Cycloheximide-Gruppierung

4.) Auswertung mittels der linearen Covarianzanalyse

Wie aus diesen Ausführungen ersichtlich, ergaben sich nach dem Test von Scheffé zwischen den einzelnen Tierversuchgruppen teilweise signifikante Unterschiede der einzelnen Parameter. Damit ist jedoch noch nichts über die gegenseitige Abhängigkeit der einzelnen Enzyme ausgesagt; es bedeutet lediglich, daß ein gleichsinniges Verhalten vorliegt. Die Klärung dieser Frage verlangt vielmehr die Anwendung der linearen Covarianzanalyse. Hierbei werden die Parameter als auf einer Geraden $y = Bx + A$ liegend berechnet.

Die entsprechenden Ausführungen, bei denen jeweils $y = 5\text{'-NTD}$ und $x = A^D$ bzw. LAP gesetzt wurden, zeigten folgendes Ergebnis:

a.) Covarianzanalyse zwischen der 5'-NTD und A^D

Für jede Gruppe, also die Kontrolle, Anit, Anit-Puromycin und Anit-Cycloheximide wurden die Werte getrennt berechnet (Tabelle III). So ergab die Kontrolle bei einer Ordinate von 5,6639 und einer Steigung von 0,0310 einen Korrelationskoeffizienten von 0,3993. Damit war statistisch keine Zuordnung zwischen beiden Enzymaktivitäten möglich. Bei der Anitgruppe mit einer Ordinate von 24,6048, einer Steigung von 0,0504 und einem Korrelationskoeffizienten von 0,4333 fand sich das gleiche Bild.

Die Anit-Puromycingruppe zeigte mit 0,0797 einen völlig anderen Korrelationskoeffizienten. Auch hier war bei einer Ordinate von 80,7908 und einer Steigung von 0,0204 kei-

nerlei Beziehung nachweisbar.

Dies gelang auch nicht bei den Anit-Cycloheximide-Tieren: hier berechnete sich eine Ordinate von 6,5735 und eine Steigung von 0,0340. Daraus ergab sich ein Korrelationskoeffizient von 0,3567.

Somit war es nicht möglich, eine Korrelation zwischen der AP- und 5'-NTD-Aktivität mittels der linearen Covarianzanalyse nachzuweisen.

b.) Covarianzanalyse zwischen der 5'-NTD und der LAP

Die Kontrolle zeigte bei einer Ordinate von 8,6062 und einer Steigung von 0,3664 einen Korrelationskoeffizienten von 0,3671 (Tabelle III). Statistisch war hier keine Zuordnung möglich. Auch die Anitgruppe mit einer Ordinate von 59,7203 und einer Steigung von 0,1768 zeigte bei einem Korrelationskoeffizienten von 0,0538 das gleiche Ergebnis.

Die Anit-Puromycingruppe ergab eine Ordinate von 46,0216 und eine Steigung von 0,4311. Der entsprechende Korrelationskoeffizient ließ auch hier mit einer Größe von 0,3195 keine statistische Zuordnung zu.

Die letzte Gruppe, Anit-Cycloheximide, schloß sich ebenfalls diesem Gesamttenor an : mit einer Ordinate von 9,3279, einer Steigung von 0,1601 und einem Korrelationskoeffizienten von 0,1672 war statistisch auch hier keine Zuordnung zwischen der 5'-NTD- und LAP-Aktivität möglich. Damit ergab sich bei der linearen Covarianzanalyse sowohl bei der Anwendung auf die 5'-NTD/AP- als auch die 5'-NTD/LAP-Beziehungen das gleiche Bild : obwohl die Geraden eine annähernd gleiche Steigung aufwiesen, war doch der Ordinatenabschnitt zu unterschiedlich. Damit lagen die Mittelwerte zwar mit ähnlichem Winkel zur x-Achse, es gab jedoch keine Möglichkeit, sie auf einer Linie anzuordnen. Aufgrund fehlender Linearität der Regressionsgeraden konnte man mit Hilfe der linearen Covarianzanalyse statistisch keine Beziehung zwischen der 5'-NTD einerseits und der AP bzw. LAP andererseits ermitteln.

Tabelle III

Korrelationskoeffizienten zwischen der Aktivität der
5'-NTD/AP und der 5'-NTD/LAP in den verschiedenen
Tierversuchsgruppen

5'-NTD/AP

=====

Versuchsgr.	Ordinate	Steigung	Korr.Koeff.	Sign.
Kontrolle	5,6639	0,0310	0,3993	-
Anit	24,6048	0,0504	0,4333	-
A. + P.	80,7908	0,0204	0,0797	-
A. + C.	6,5735	0,0340	0,3567	-

5'-NTD/LAP

=====

Versuchsgr.	Ordinate	Steigung	Korr.Koeff.	Sign.
Kontrolle	8,6062	0,3664	0,3671	-
Anit	59,7203	0,1768	0,0538	-
A. + P.	46,0216	0,4311	0,3195	-
A. + C.	9,3279	0,1601	0,1672	-

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

Tabelle IV

Korrelationskoeffizienten zwischen den Enzymaktivitäten der
AP/yGT, AP/5'-NTD und yGT/5'-NTD bei 57 normalen Humanseren

	r	Signifikanz
AP/ yGT	0,043	-
AP/5'-NTD	0,115	-
yGT/5'-NTD	0,337	+

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich

+ = p = 5% = statistisch auffällig

++ = p = 1% = statistisch signifikant

Tabelle V

Mittelwerte und Standardabweichungen der Enzymaktivitäten
in U/l der AP, LAP, γ GT und 5'-NTD bei Humanseren mit
erhöhten AP- und LAP- Werten

	AP	LAP	γ GT	5'-NTD
n	29	29	29	29
$\bar{x}$	758	78	497	35,7
s	1008	60	678	33,8

Tabelle VI

Korrelationskoeffizienten zwischen den Enzymaktivitäten der
AP/LAP, AP/yGT, AP/5'-NTD, LAP/vGT, LAP/5'-NTD, vGT/5'-NTD
bei 29 Humanseren mit erhöhten AP- und LAP-Werten

	r	Signifikanz
AP/LAP	0,015	-
AP/yGT	0,077	-
AP/5'-NTD	0,572	++
LAP/yGT	0,093	-
LAP/5'-NTD	0,335	-
vGT/5'-NTD	0,007	-

- = statistisch ist keine Zuordnung möglich
+ = p = 5% = statistisch auffällig
++ = p = 1% = statistisch signifikant

Tabelle VII

Korrelationskoeffizienten zwischen den Enzymaktivitäten der
AP/LAP, AP/yGT, AP/5'-NTD, LAP/yGT, LAP/5'-NTD und yGT/5'-NTD
bei 25 Humansenen mit erhöhten LAP- und normalen AP-Werten

	r	Signifikanz
AP/LAP	0,204	-
AP/yGT	0,247	-
AP/5'-NTD	0,458	+
LAP/yGT	0,022	-
LAP/5'-NTD	0,070	-
yGT/5'-NTD	0,074	-

- = statistisch keine Zuordnung möglich

+ = p. = 5% = statistisch auffällig

++ = p. = 1% = statistisch signifikant

C.) Patientenkollektiv zur Überprüfung der Exkretionsenzyme

1.) Normale Humanseren

Bei einer Anzahl von 57 Humanseren mit Parametern im Normalbereich wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen bestimmt:

	$\bar{x}$	2s
Alkalische Phosphatase	108	33
yGT	24,1	11,7
5'-NTD	7,8	5,1

Anschließend wurde zur Ermittlung einer Beziehung der Dubois' sche Korrelationskoeffizient r berechnet. Er ergab zwischen der AP und yGT einen Wert von 0,043 (Tabelle IV). Damit schied statistisch eine Zuordnung aus. Das gleiche Ergebnis zeigte das Verhältnis der AP zur 5'-NTD mit einem Koeffizienten von 0,115. Lediglich eine statistische Auffälligkeit war zwischen dem Verhalten der yGT und der 5'-NTD nachweisbar; der Korrelationskoeffizient betrug hier 0,337.

2.) Seren mit erhöhten AP und LAP-Werten

Hier wurden 29 Humanseren ausgewertet (Tabelle V). Entsprechend der Definition der Gruppe lagen die Werte der AP und der LAP über dem Normalniveau:

	$\bar{x}$	2s
Alkalische Phosphatase	758	1008
Leucinaminopeptidase	78	60

Das gleiche war aber auch bei der yGT und der 5'-NTD nachzuweisen:

	$\bar{x}$	2s
yGT	497	678
5'-NTD	35,7	33,8

Die Frage nach einer statistischen Korrelation ergab einen Korrelationskoeffizienten von 0,572 zwischen der AP und 5'-NTD (Tabelle VI). Alle anderen Enzymaktivitäten ergaben keine statistische Zuordnung (Koeffizient zwischen der AP- und LAP-Aktivität $r = 0,015$ und zwischen der AP und yGT $r = 0,077$).

Die Beziehungen der LAP zu der yGT und der 5'-NTD ergaben

ebenfalls keine statistische Zuordnung. Hier betrug der Korrelationskoeffizient mit der yGT 0,093 und mit der 5'-NTD 0,335. Die Korrelation zwischen der yGT und der 5'-NTD ergab einen Koeffizienten $r = 0,007$.

3.) Seren mit erhöhten LAP- und normalen AP-Werten

Zur Auswertung lagen hier 25 Seren vor (Tabelle VII). Entsprechend der Gruppeneinteilung betrugen die Mittelwerte :

	$\bar{x}$	2s
Alkalische Phosphatase	158	35
Leucinaminopeptidase	57	20

Die yGT und die 5'-NTD zeigten dabei folgende Aktivitäten:

	$\bar{x}$	2s
y-Glutamyltransferase	368	326
5'-Nucleotidase	14,8	12,1

Die Korrelation der AP erbrachte gegenüber der LAP einen Koeffizienten r von 0,204. Statistisch war damit keine Zuordnung möglich. Auch die Beziehung AP/yGT ($r = 0,247$) zeigte das gleiche Ergebnis. Eine statistische Auffälligkeit bestand wiederum im Verhalten zwischen AP/5'-NTD mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,458.

Die LAP-Aktivität ließ sich ebenfalls nicht mit derjenigen eines anderen Parameters in Einklang bringen. So betrug der Korrelationskoeffizient mit der yGT 0,022, mit der 5'-NTD 0,070.

Die Aktivitäten der yGT und der 5'-NTD verhielten sich ebenfalls sehr unterschiedlich. Dies zeigte ein Koeffizient von 0,074.

So erbrachte der Vergleich zwischen den Enzymaktivitäten der Humansenen:

- ein statistisch auffälliges Verhalten zwischen der yGT und 5'-NTD bei den Normalseren
- bei den Seren mit erhöhten AP- und LAP-Werten ein signifikantes Verhalten bezüglich der AP- und 5'-NTD-Aktivität
- bei den Seren mit erhöhten LAP- und normalen AP-Werten eine statistische Auffälligkeit zwischen der AP und 5'-NTD
- sonst waren mittels des Dubois'schen Korrelationskoeffi-

zienten keinerlei Beziehungen zwischen den einzelnen Enzymaktivitäten nachzuweisen .

Diskussion :

Die Veränderungen der klinisch-chemischen Parameter bei intra- und extrahepatischer Cholestase können zwei Ursachen haben. Einmal besteht eine erhebliche Exkretionsbehinderung, zum anderen konnte nachgewiesen werden, daß die Syntheseleistung der Leber für Proteine und Cholesterin erhöht ist. Die Störungen der Exkretion der Leber bei Cholestase konnten elektronenoptisch bestätigt werden(24). Dabei zeigten sich erweiterte Gallencanaliculi, die Divertikel in das Cytoplasma der Leberzelle entsenden. Ihre Mikrovilli sind deformiert : entweder blasig geschwollen, verkümmert oder geschwunden. Im Lumen findet sich ein loses, feines, granuliertes Material oder ein dichter, leicht fibrillär strukturierter Pfropf. Die pericanaliculäre Zone ist erweitert. Wenn die Cholestase schwerer wird, proliferieren die sinusoidalen Zellen (24,22). Nach langdauernden Erkrankungen läßt sich häufig eine periportale Entzündung nachweisen (20). Leider finden sich diese Befunde aber sowohl bei intra- als auch extrahepatischer Cholestase, so daß eine Unterscheidung elektronenoptisch nicht möglich ist.

Der Anstieg der hepatisch gebildeten AP, der LAP und der 5'-NTD wird verschieden interpretiert (14,20,34). Ihr Syntheseort ist der gallesezernierende Apparat des Hepatocyten. Hierzu zählen die Mikrovilli des Canaliculus. Ferner die Organellen, welche um den Canaliculus angeordnet sind, einschließlich der dichten pericanaliculären Zone, Teile des Golgi-Apparates und agranuläres Endoplasmatisches Reticulum. Die Mikrovilli besitzen eine eigene Enzymausstattung. Sie sezernieren z.B. die AP in wesentlich höherer Konzentration in die Gallengänge als in das Serum. So fanden Lorents und Jaspers (13) Mittelwerte von 499 U/l in der Lebergalle gegenüber 175 U/l im

Serum bei Patienten ohne histologisch erkennbare Schädigung der Leber. Bei Verschluss des Gallenganges steigt sowohl die Konzentration im Gallengang als auch im Serum beträchtlich an. Für die Erhöhung der Serumaktivität macht ein Teil der Experten die Exkretionsstörung allein verantwortlich. Ein anderer Teil verweist auf die gesteigerte Proteinsynthese, der eine vermehrte Enzymsynthese parallel gehe und sieht in beiden Ursachen den Grund für die erhöhte Serumaktivität.

Auch die Werte für indirektes und direktes Bilirubin steigen bei Cholestase im Blut an. Hierbei strömt das bereits im Hepatocyten gebildete direkte Bilirubin durch Rückstau wieder in die Blutbahn, während das indirekte aufgrund von Überlastung der Umwandlungsmechanismen erst gar nicht in die Zelle gelangt ("Leberzellblock") (23).

Nur mit gestörtem Abfluß ist die Erhöhung des Kupferspiegels zu werten (23).

Das Haptoglobulin (9,21) und Caeruloplasmin als hepatisch gebildete Proteine sind besonders interessant. Sie verhalten sich bei Cholestase gleichsinnig und steigen im Gefolge der anabolen Reaktion der Leberzelle und nicht durch verzögerten Abbau an (25,27).

Die Vermehrung des Cholesterins wird primär in gesteigerter Produktion von Gallensäuren und Phospholipiden gesehen, die beide die Cholesterinlöslichkeit wesentlich erhöhen (23). Der dadurch bedingte Abstrom in die Blutbahn wirkt sich in einer Stimulierung der Cholesterinsynthese aus.

Die vGT ist ein membran gebundenes und in den parenchymatösen Organen vorhandenes Enzym, dem daher nur eine geringe Organspezifität zukommt. Sie wurde kürzlich allerdings auch cytoplasmatisch nachgewiesen (32).

Die Diskussion über die Ursache der intrahepatischen Cholestase gab schon zu vielen Theorien Anlaß. So postuliert Virchow einen Schleimpfropf im dct. choledochus, Eppinger nahm einen mechanischen Faktor wie Kompression oder Destruktion der Gallengänge an, Rössle, schließlich auch Watson und Hofbauer sprachen von einer Cholangiolitis, einer Theorie, der sich auch Haner und Guttmann anschlossen.

Das neueste Denkmodell auf diesem Gebiet stellte nun Popper vor. Er nahm bei allen oben angeführten Möglichkeiten daran Anstoß, daß von Beginn der Erkrankung eine periportale Entzündung nachweisbar sein müßte, die elektronenoptischen Untersuchungen widerlegten jedoch diese Ansicht. Daher lehnte er die bisher mehr oder minder mechanischen Theorien zugunsten einer metabolischen Genese ab.

Ausgehend davon, daß das Gallensekret aus festen Schlüsselsubstanzen und einer elektrolythaltigen Flüssigkeit zusammengesetzt wird, haben nach seiner Ansicht die "Schlüsselsubstanzen" für das Problem der Cholestase keine große Bedeutung. Sie bewegen sich auf bisher unbekannte Weise durch das pericanaliculäre Ektoplasma, unabhängig von der "elektrolythaltigen Flüssigkeit" fort. Die Flüssigkeit aber, in welcher die Gallensäuren ein wichtiges Anion darstellen, wird von den Mikrovilli sezerniert. Die Bedeutung der primären Gallensäuren liege nun darin, die Sekretion der angeführten Flüssigkeit in Gang zu setzen. Eine Störung in diesem Bereich müßte dann zu einer Cholestase führen (22). Dies kann z.B. die Tauroolithocholsäure bewirken, welche ein Antagonist der primären Gallensäuren darstellt. Exogen können dies Arzneimittel (z.B. kontrazeptive Präparate, anabole Steroide) und Alkohol bewirken ; endogen Intermediärprodukte, welche zwischen Cholesterin und den primären Gallensäuren entstehen können. Dies ist durch Anomalien in der Hydroxylierung oder durch gestörte Paarung bei einem veränderten agranulären Endoplasmatischen Retikulum möglich. Auch die bei Cholestase oft auftretende periportale Entzündung läßt sich nach der Theorie von Popper erklären, allerdings als Folgeerscheinung und nicht als Ursache. Das in seiner Zusammensetzung veränderte Sekret , aber auch eine immunologische Reaktion mit antiductulären Antikörpern können hierbei verantwortlich zeichnen (22).

Aus diesen Beobachtungen schloß Popper, daß bei intrahepatischer Cholestase eine anabole Schädigung der Leberzelle besteht. Hieraus folgt eine Exkretionsstörung der Di- und Trihydroxylierten Gallensäuren, welche in den gallesezer-

nierenden Organellen gebildet werden. Damit entfällt das primum movens der Gallesekretion, die zum Erliegen kommt.

Veränderungen im Sinne einer gesteigerten Proteinsynthese waren schon früher an Leberpunktzylindern aufgefallen, die Bestätigung lieferte jedoch Richter. Er erzeugte bei der Ratte die intrahepatische Cholestase durch orale Applikation von Anit (Alpha-naphthyl-isothiocyanat) (11,30). Mittels früherer Untersuchungen hatte Richter hierbei beobachten können, daß keine Unterschiede im Verhalten der Leber zu einer experimentellen extrahepatischen Cholestase oder zur Cholestase nach Tauroolithocholsäure bzw. Icterogenin nachweisbar waren. Histologisch ließen sich 24 Stunden nach Beginn der Versuche Zeichen einer destruierenden Cholangitis mit ödematösen und entzündlich-infiltrativen Veränderungen der Periportalfelder, kleinen Gallengängen und intralobulären ductuli beobachten. Das Leberparenchym wies einen Schwund des Glykogens auf. Nach 48 Stunden waren die histologischen Befunde ähnlich.

Die Messung der Proteinsynthese führte er an Rattenleberschnitten in vitro durch Inkubation mit ¹⁴C-markierten Aminosäuren durch. Dabei zeigte sich nach 48 Stunden eine deutlich gesteigerte Proteinsynthese.

Die Veränderungen im klinisch-chemischen Bereich äußerten sich in einem signifikanten Anstieg aller gemessenen Parameter, also der AP, LAP, 5'-NTD, des Haptoglobins und Caeruloplasmins, Bilirubins, Kupfers und Cholesterins. Ähnlich verhielten sie sich auch im Serum von Patienten. Auch hier stiegen alle Parameter statistisch signifikant gegenüber der Kontrolle an; so die in den gallesezernierenden Organellen gebildete AP, das Bilirubin, das in seiner Ausscheidung behinderte Kupfer und die in der Leber synthetisierten Haptoglobin und Caeruloplasmin. Dies war sowohl bei benignem als malignem Verschlaußikterus der Fall. Die gleiche Tendenz zeigten in den Patientenserum die LAP und 5'-NTD, aber auch das Cholesterin. Damit läßt sich die erste Fragestellung bejahen: klinisch-chemisch ist die Anitcholestase der

menschlichen Erkrankung vergleichbar.

Der zweite Diskussionspunkt befaßte sich mit dem Problem, welche Priorität den Exkretionsenzymen bei der Cholestasediagnostik einzuräumen sei. Wie gezeigt wurde, stiegen neben den Exkretionsenzymen auch Bilirubin, Kupfer und Cholesterin an. Dabei zeichnen sich die AP, LAP und 5'-NTD durch eine gegenüber den anderen Parametern wesentlich größere Spezifität aus. So ist bei erhöhtem Bilirubinspiegel neben Virushepatitis, chron. aggressiver Hepatitis und Cholestase auch an die hämolytische und perniziöse Anämie, sowie M. Gilbert zu denken (26). Auch ein erhöhtes Cholesterin läßt einen breiten Spiegel an Differentialdiagnosen offen, so Diabetes mellitus, die Fettstoffwechselstörungen, aber auch M. Cushing und die akute Pancreatitis (26). Beim Kupfer bleiben neben der akuten Hepatitis und der Leberzirrhose auch maligne Tumore als Ursache des erhöhten Serumspiegels. Die vGT ist vermehrt bei Gallengangserkrankungen (2,17,19,32), Leber- und Pancreasschäden, auch bei Herzinfarkt, Lipoidnephrosen und Colitis ulcerosa (1,4). So bleiben die in den Gallesezernierenden Organellen gebildeten Enzyme AP, LAP und 5'-NTD. Auch hier ergeben sich Aktivitätsanstiege aus extrahepatischer Ursache, die sich jedoch durch gleichzeitige Bewertung dieser Parameter eliminieren. So findet sich extrahepatisch ein Anstieg der AP z.B. bei Osteoblastentätigkeit (Kindesalter, Frakturen, Rachitis), Gravidität und Hynerthvrose (26). Eine spezifischere Aussage gestattet die Bewertung der LAP, bei welcher man lediglich Pancreaserkrankungen im Auge behalten muß. Sie verzeichnet zwar nicht so fulminante Anstiege wie die AP, sie ließen sich aber als statistisch signifikant nachweisen. Bei der 5'-NTD findet sich ein sehr starker Anstieg bei cholestatischen Prozessen. Sie kann unter Umständen den einzigen Hinweis auf Lebermetastasen, Pericholangitis, Intoxikation, Fettleber, kardiale Stauung oder sonstige leichte Behinderung des Galleabflusses geben (3). Sie wird auch eingesetzt, um zu ermitteln, ob ein Anstieg der AP osteoblastischer oder biliärer Genese ist.

Die Priorität dieser drei Enzyme liegt damit in ihrer eindeutigen Reaktion auf einen gestörten Galleabfluß. Dabei zeigten die Meßergebnisse zahlenmäßig den höchsten Anstieg bei der AP. Die neben der routinemäßig üblichen AP- und LAP-Bestimmung durchgeführte 5'-NTD-Messung bringt allerdings keine neueren diagnostischen Erkenntnisse. In den Untersuchungen lag bei 57 Patienten mit normaler AP und LAP nur einmal eine pathologische 5'-NTD-Aktivität vor, bei 29 Humanseren mit erhöhter AP und LAP lag die Aktivität der 5'-NTD elfmal im Normalen.

Das weitere Problem ist die Frage nach der gesteigerten Proteinsynthese. Dabei erhebt sich besonders die Frage, ob diese gesteigerte Proteinsynthese in dem Kollektiv, gemessen am Anstieg des Haptoglobins und Caeruloplasmins lediglich als Symptom oder als pathogenetischer Faktor anzusehen ist.

Wenn nach der Theorie von Ponner metabolische Vorgänge eine Ursache der Cholestase sind, müßte es möglich sein, durch Antimetabolite, z.B. durch die Antibiotica Puromycin und Cycloheximide die anabole Reaktion zu stoppen und damit die Cholestase zu beeinflussen. Bei den klinisch-chemischen Untersuchungen müßte es demzufolge nach Behandlung mit Antimetaboliten zu einem Abfall oder einer Normalisierung der Exkretionsenzyme AP, LAP, 5'-NTD und zu einer Verminderung des Serumbilirubins und Kupfers kommen.

Der Wirkungsmechanismus dieser beiden Antimetabolite wird wie folgt interpretiert:

der inhibitorische Effekt von Puromycin beruht auf seiner Ähnlichkeit mit der Endgruppe der t-RNA (5,6,7,15). Beide sind in Position 9 an Adenin gebunden, haben in 3'-Stellung eine Aminosäure angelagert und stimmen auch in vielen stereochemischen Faktoren überein. So wird Puromycin beim Einbau an die m-RNA mit der t-RNA verwechselt. Da es jedoch nicht die Fähigkeit besitzt, für weiteres Kettenwachstum zu sorgen, wird die Proteinsynthese unterbrochen, wobei unvollständige Pentidketten am Carboxylende abgestoßen werden.

Der Wirkungsmechanismus von Cycloheximide (Actidione = Naramycin A) dagegen erinnert lebhaft an denjenigen von Chloramphenicol . Es greift am Ribosom selbst an und blockiert einerseits die Proteinsynthese durch frühzeitige Interaktion noch vor den ersten Aminosäureverbindungen zu Peptiden. Andererseits wird durch Wechselbindung zwischen r-RNA und m-RNA verhindert, daß bereits gebildete Peptidketten freigesetzt werden (5,6,7).

In dem Untersuchungsmaterial verhielten sich die klinisch-chemischen Parameter nach Behandlung mit Antimetaboliten unterschiedlich. Nach Puromycin kam es bei Anitratten lediglich zu einem Abfall der Aktivität der alkalischen Phosphatase und LAP. Alle anderen Untersuchungen zeigten etwa gleiche Ergebnisse wie bei den Puromycin-unbehandelten Tieren. Ähnliche Befunde liegen von Prellwitz (28) vor. Er konnte lediglich nach Puromycin einen Abfall des Haptoglobins und Caeruloplasmin beschreiben. Die Werte lagen jedoch auch hier noch signifikant über denen der Kontrollgruppe.

Nach Cycloheximide kehren alle untersuchten Parameter zur Norm zurück, lediglich die Aktivitäten der LAP und 5'-NTD sind gegenüber der Kontrolle erhöht. Diese Ergebnisse stimmen mit den Untersuchungen von Richter (30) überein. Er fand bei Anitratte nach Cycloheximide gleiche Veränderungen an den Gallenwegen wie nach Anit allein. Die Parenchymveränderungen wurden jedoch durch Cycloheximide vermindert. So kam es nach Gabe von Cycloheximide zu einem signifikanten Abfall der Aktivität der cytoplasmatischen GPT im Serum. Nach Puromycin scheint die Parenchymschädigung weiter zu bestehen, da in den Untersuchungen von Prellwitz die Aktivitäten der GPT und GOT nach Puromycin weiter anstiegen. Diese Ergebnisse waren auch nach den Versuchen von Young (36) zu erwarten, der ebenfalls eine erheblich stärkere inhibitorische Wirkung von Cycloheximide beobachten konnte. So benötigte er bei seinen Versuchen an der Ratte zur 90%igen Blockade der Proteinsynthese 375 mg/kg Puromycin, jedoch nur 50 mg Cycloheximide pro kg.

Die Reaktion jener Parameter, welche über die Sekretion des gallesezernierenden Apparates eine Aussage gestatten, zeigte, daß offenbar nach Anit ein deutlicher Block aufgetreten sein mußte. Dieser konnte von Puromycin nicht beeinflußt werden, wurde von Cycloheximide jedoch vollkommen aufgehoben. Die nach Anit gesteigerte Proteinsynthese hielt auch nach Puromycin an, wurde durch Cycloheximide aber sehr stark eingeschränkt und pendelte sich unter das Normalniveau ein.

Damit lassen sich zusammenfassend die in der Einleitung erhobenen Fragen wie folgt beantworten:

- 1.) bei der intra- und extrahepatischen Cholestase des Menschen und der experimentellen Cholestase der Ratte sind im Serum die entsprechenden klinisch-chemischen Parameter eindeutig verändert. Auch kommt es in allen Fällen zu einer Erhöhung der hepatisch gebildeten Serumproteine Haptoglobin und Caeruloplasmin.
- 2.) bei der Untersuchung der Priorität der verschiedenen Exkretionsenzyme, wie der AP, LAP und 5'-NTD, ergaben sich durch Korrelationskoeffizienten keine zusätzlichen Informationen durch die Bestimmung der 5'-NTD.
- 3.) die klinisch-chemischen Parameter für Cholestase wurden durch Puromycin und Cycloheximide unterschiedlich beeinflußt. Dabei blieben nach Puromycin die Zeichen der gesteigerten Proteinsynthese und die klinisch-chemischen Parameter der Cholestase unverändert, während nach Cycloheximide praktisch eine Normalisierung eintrat.

Zusammenfassung :

An Humanseren und im Tierversuch wurde das Verhalten von Serumparametern bei Cholestase beobachtet. Dabei zeigte sich klinisch-chemisch das gleiche Bild bei der Anitcholestase und bei der Cholestase am Menschen. Eine Bestimmung der 5'-NTD-Aktivität zusätzlich zur routinemäßigen AP- und LAP-Messung erwies sich als überflüssig, da sie keine weitere Information erbringt. Die beiden Antimetabolite Puromycin und Cycloheximide zeigten eine unterschiedliche Wirkung auf die bei Cholestase gesteigerte Proteinsynthese.

Literatur

=====

- 1.) Agostoni, A.
Serum gamma-glutamyl-transpeptidase activity in myocardial infarction
Brit. Heart J. 27 , 688-690 (1965)
- 2.) Aronsen, K.F., A. Hanson
The value of gamma-glutamyl-transpeptidase in differentiating viral hepatitis from obstructive jaundice
Acta chir. Scand. 130 92-99 (1965)
- 3.) Beckmann, J., K. Leybold, L. Weishecker
Zur Bestimmung der 5'-Nucleotidase im Serum
Z. Klin. Chem. 7 18-24 (1969)
- 4.) Biochemica-Testfibel
Boehringer GmbH, Mannheim 1972
- 5.) Bücher, T., H. Sies
Inhibitors, Tools in cell research
Heidelberg-Berlin-New York 1969
- 5.) Decker, K., H.F. Franz
Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Puromycin und Aminonucleosid auf die Proteinsynthese
Klin. Wschr. 42 583-586 (1964)
- 7.) Gottlieb, D, P. Shaw
Antibiotics I + II
Heidelberg-Berlin-New York 1967
- 8.) Jayle, M.
Méthode de dosage de l'haptoglobine sérique
Bull. Soc. chim. biol. 33 876-880 (1951)
- 9.) Kluthe, R., P. Meyer
Bestimmung des α_2 -Haptoglobinspiegels bei Nierenerkrankungen
Klin. Wschr. 39 205-206 (1961)
- 10.) Kühn, H.A., E. Richter
Pathophysiologie u. Klinik der intrahepatischen Cholestase
Med. Klin. 65 1-8 (1970)

- 11.) Leinweber, B., E. Richter
Histologische Befunde und Proteinsynthese der Ratten-
leber bei Anitcholestase
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 75 365-367 (1969)
- 12.) Leybold, K., J. Beckmann, L. Weisbecker
Kinetische Bestimmung der 5'-Nucleotidase im Serum
Z. Klin. Chem. 23-27 (1969)
- 13.) Lorentz, K., G. Jaspers
Untersuchungen zur biliären Elimination von Enzymen
Klin. Wschr. 48 215-221 (1970)
- 14.) Lukasik, S., R. Richterich, J.-P. Colombo
Der diagnostische Wert der alkalischen Phosphatase,
Leucinaminopeptidase und der gamma-Glutamyl-Trans-
peptidase bei Erkrankungen der Gallenwege
Schweiz. med. Wschr. 98 81-83 (1968)
- 15.) Matthaei, H., G. Sander
Reaktionsschritte der Polypeptidsynthese an Ribosomen
Naturwissenschaften 55 281-294 (1968)
- 16.) Moran, E., M. Eliakim
Serum vitamin B₁₂ and glutamic-oxalacetic transaminase
in experimental intrahepatic obstructive jaundice
Gastroenterology 40 408-415 (1961)
- 17.) Naftalin, L., V.J. Child
Observations on the site of origin of serum gamma-
glutamyltranspeptidase
Clin. chim. Acta 26 297-300 (1969)
- 18.) Nagel, W., F. Willig, F.-H. Schmidt
Über die Aminosäurearylamidase-(soa. Leucinaminopen-
tidase) Aktivität im menschlichen Serum
Klin. Wschr. 42 447-449 (1964)
- 19.) Orłowski, M., A. Szczeklik
Heterogeneity of serum gamma-glutamyl-transpeptidase
in hepatobiliary diseases
Clin. chim. Acta 15 387-391 (1967)
- 20.) Persijn, J.-P., W. van der Slik, K. Kramer
A new method for the determination of serum nucleotidase
Z. Klin. Chem. 6 - 441-446 (1968)

- 21.) Peters, J.H., C.A. Alper
Haptoglobin synthesis. II. Cellular localization studies
J. clin. Invest. 45 314-320 (1966)
- 22.) Popper, H.
Intrahepatische Cholestase
In : Aktuelle Hepatologie
hrsg von H.A. Kühn, H. Liehr
Stuttgart 1969 , Seite 1-12
- 23.) Popper, H.
Liver, structure and function
New York 1957
- 24.) Popper, H., A. Medline
Die Organellen-Pathologie
Münch. med. Wschr. 111 1569-1574 (1969)
- 25.) Prellwitz, W.
Klinisch-chemische Diagnose und Differentialdiagnose
der Lebererkrankungen
Therapiewoche 20 1421-1428 (1970)
- 26.) Prellwitz, W.
Klinisch-chemische Diagnostik
Stuttgart 1973
- 27.) Prellwitz, W., C.-H. Hammar, J. Dudeck
Haptoglobin und Caeruloplasmin bei Krankheiten der
Leber und Gallenwege
Dtsch. med. Wschr. 93 1277-1281 (1968)
- 28.) Prellwitz, W., E. Schmitz
Untersuchungen von Plasmaproteinen und Enzymen bei
experimenteller Cholestase vor und nach Behandlung
mit Puromycin.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 76 1147-1150 (1970)
- 29.) Richter, E., B. Grün
der Einfluß der Proteinsynthese der Leber auf die
Entwicklung der experimentellen Cholestase der Ratte
Acta hepato-splenologica 17 117 (1970)
- 30.) Richter, E., M. Grün
Proteinsynthese und Ikterus bei der ANIT-Cholestase
der Ratte
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 75 367-369 (1969)

- 31.) Richterich, R.
Klinische Chemie, Theorie und Praxis
Basel-München-Paris 1971
- 32.) Rutenburg, A.M., E.E. Smith
Elektrophoretic mobilities of serum gamma-glutamyl-
transpeptidase and its clinical application in
hepatobiliary disease
J. Lab. clin. Med. 69 504-517 (1967)
- 33.) Szasz, G.
A Kinetic Photometric Method for Serum gamma-glutamyl-
transpeptidase
Clin. Chem. 15 124-136 (1969)
- 34.) Weber, H.
Die Bedeutung der Leucin-Aminopeptidase
Dtsch. med. Wschr. 94 181-184 (1969)
- 35.) Wewalka, F.
Laborbefunde bei Gallensteinleiden
Wien. Klin. Wschr. 39 730-733 (1968)
- 36.) Young, C.
Inhibition of the synthesis of protein in intact
animals by Acetoxycycloheximide and a metabolic
derangement concomitant with its blockade
Biochem. Pharmacology 12 855-865 (1963)

Danksagung

=====

Dank schulde ich Herrn Prof. Dr. W. PRELLWITZ für die Überlassung des Themas, wie auch für seine fachlichen Anregungen und die Durchsicht der Korrekturen.

Herrn Dr. med. B. Friedel danke ich für die statistische Überprüfung der Ergebnisse meiner Untersuchungen.

Den Ärzten der Station 4 I a der II. Medizinischen Kliniken bin ich zu Dank verpflichtet für ihr Interesse an meiner Dissertation und für die Bereitstellung von Patientenseren.

Außerdem fühle ich mich einer großen Zahl von Patienten verbunden, welche diese Studie erst ermöglichten.

Mainz, im Oktober 1973

Lebenslauf

=====

Als ältester Sohn meines Vaters Dr. med. Fritz Dickgießer, Facharzt für Laboratoriumsmedizin, und seiner Ehefrau Ilse, geb. Schwaiger, wurde ich am 11.5.48 in Tauberbischofsheim geboren.

Nach der Volksschulzeit in Heidelberg und Marburg besuchte ich ab 1959 das humanistische Gymnasium in Marburg, wo ich 1967 die Reifeprüfung ablegte. Im August und September jenes Jahres arbeitete ich in der Medizinischen Universitätsklinik Marburg als Krankenpflegepraktikant. Anfang Oktober wurde ich zur Bundeswehr eingezogen und zum Sanitätsoffizier ausgebildet.

Mit dem Wintersemester 68/69 nahm ich mein Studium an der Philipps-Universität Marburg auf. Dort legte ich auch das Vorphysikum am 1.10.69 und das Physikum am 26.3.71 ab. Anschließend wechselte ich zur Johannes Gutenberg Universität in Mainz.

Famulaturen :

15.2.72 - 17.4.72 Chirurgische Abteilung des St. Johannis-Krankenhauses, Landstuhl (Rheinland-Pfalz)

17.7.72 - 15.9.72 Innere Station des Atlantic City Hospital, Atlantic City, New Jersey, USA

15.2.73 - 9.3.73 Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Universitätsklinik Mainz

Nach dem Wintersemester 1973/74 werde ich in Mainz das Staatsexamen ablegen.

